REVENDICATIONS

Peptide comprenant essentiellement la séquence peptidique de formule (I),
 Xaa-Cys-Xab-Cys-Xac-Cys-Xad-Cys-Xae-Cys-Xaf-Cys-Xag

5

10

15

25

(I)

dans laquelle:

Xaa est -NH₂ ou un reste peptidique comprenant de 1 à 10 acides aminés, de préférence de 1 à 6 acides aminés,

Xab est un reste peptidique comprenant de 1 à 10 acides aminé, de préférence 10,

Xac est un reste peptidique comprenant de 3 acides aminés,

Xad est un reste peptidique comprenant de 1 à 9 acides aminés, de préférence 9,

Xae est un reste peptidique comprenant de 1 à 7 acides aminés, de préférence 7,

Xaf est un reste peptidique de 1 acide aminé, et

Xag est -OH ou un reste peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés, de préférence 1 ou 2 acides aminés.

- Peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que Xaa comprend au moins un acide aminé basique, et/ou
 Xad comprend au moins un acide aminé basique.
- 3. Peptide selon la revendication 2, caractérisé en ce que Xad comprend 1, 2,
 20 3 ou 4 acides aminés basiques.
 - 4. Peptide selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce que les acides aminés basiques sont choisis parmi la lysine, l'arginine ou l'homoarginine.
 - 5. Peptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que Xad représente la séquence peptidique suivante -Lys-Xad'-Xad"-Gly-His-, dans laquelle Xad' représente un reste peptidique de 1 acide aminé basique et Xad" représente un reste peptidique comprenant de 0 à 5 acides aminés, de préférence 5.
 - 6. Peptide selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que Xad représente la séquence peptidique suivante -Lys-Arg-Arg-Gly-Tyr-Lys-Gly-Gly-His-.
- 7. Peptide selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que Xac comprend au moins un acide aminé acide, de préférence 1.
 - 8. Peptide selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que Xac représente la séquence peptidique suivante -Asn-Xac'-Xac"-, dans laquelle Xac' représente un reste peptidique de 1 acide aminé, et Xac" représente un reste peptidique de

5

1 acide aminé acide.

- 9. Peptide selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce que les acides aminés acides sont choisis parmi l'acide glutamique (Glu) ou l'acide aspartique (Asp).
- 10. Peptide selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que Xac représente la séquence peptidique suivante -Asn-Gly-Glu-.
- Peptide selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que 11. Xaa représente la séquence peptidique suivante Xaa'-Gly-Xaa''- dans laquelle Xaa' représente NH2 ou un reste peptidique comprenant 1 à 9 acides aminés, de préférence 1 à 5 acides aminés, et Xaa''représente un reste peptidique comprenant au moins un acide 10 aminé, choisi de préférence parmi Leu, Ile, Val, Pro, Ser ou Thr, et/ou Xab représente la séquence peptidique suivante -Val-Xab'-Asp-, dans laquelle Xab' représente un reste peptidique comprenant de 0 à 8 acides aminés, de préférence 8, et/ou Xae représente la séquence peptidique suivante -Gly-Xae'-Asn-, dans laquelle Xae' représente un reste peptidique comprenant de 0 à 5 acides aminés, de préférence 5, et/ou 15 Xaf représente l'un des acides aminés suivants Trp, Phe, Leu, Ile ou Val, et/ou Xag représente la séquence peptidique suivante -Glu-Xag' dans laquelle Xag' représente OH ou un reste variable de séquence comprenant de 1 à 4 acides aminés, de préférence 1 acide aminé.
- 20 12. Peptide selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que Xaa représente la séquence peptidique suivante NH2-Asp-Lys-Leu-Ile-Gly-Ser-, et/ou Xab représente la séquence peptidique suivante -Val-Trp-Gly-Ala-Val-Asn-Tyr-Thr-Ser-Asp-, et/ou

Xae représente la séquence peptidique suivante -Gly-Ser-Phe-Ala-Asn-Val-Asn-, et/ou

Xaf représente l'acide aminé suivant -Trp-, et/ou

Xag représente la séquence peptidique suivante -Glu-Thr-OH.

- 13. Peptide selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il est représenté par l'identificateur de n° 2 (SEQ ID NO 2).
- 14. Peptide selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisé en ce qu'il comprend à l'une ou l'autre de leurs extrémités, ou les deux, des résidus peptidiques nécessaires à son expression et ciblage dans un organisme hôte.
 - 15. Peptide selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que les résidus cystéines du peptide de formule (I) forment au moins un pont disulfure

intramoléculaire.

10

15

25

30

16. Peptide selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il comprend 3 ponts disulfures établis entre les résidus cystéine 1 et 4, 2 et 5 et 3 et 6.

- 17. Peptide de fusion « peptide-héliomicine », caractérisé en ce que 5 l'héliomicine est un peptide défini selon l'une des revendications 1 à 16.
 - 18. Peptide de fusion selon la revendication 17, caractérisé en ce que le peptide fusionné à l'héliomicine est un peptide signal ou un peptide de transit.
 - 19. Peptide de fusion selon la revendication 18, caractérisé en ce que le peptide de transit est le peptide signal du gène PR-1α du tabac ou le précurseur du facteur Mat alpha 1 ou le peptide signal du gène PG1 de polygalacturonase de maïs.
 - 20. Peptide de fusion selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'il est représenté par l'identificateur de séquence n° 1 (SEQ ID NO 1), par l'identificateur de séquence n° 3 (SEQ ID NO 3), ou par l'identificateur de séquence n° 18 (SEQ ID NO 18).
 - 21. A titre de médicament, le peptide selon l'une des revendications 1 à 20.
 - 22. Composition caractérisée en ce qu'elle comprend le peptide selon l'une des revendications 1 à 20 et un véhicule approprié.
 - 23. Fragment d'acide nucléique, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence d'acide nucléique codant pour un peptide selon l'une des revendications 1 à 20.
- 24. Fragment d'acide nucléique selon la revendication 23, caractérisé en ce qu'il s'agit d'une séquence nucléotidique de type ADN.
 - 25. Fragment d'acide nucléique selon la revendication 24, caractérisé en ce que la séquence nucléotidique de type ADN comprend la séquence d'ADN décrite par les bases 16 à 147 de l'identificateur de séquence n° 1 (SEQ ID NO 1), par l'identificateur de séquence n° 2 (SEQ ID NO 2), par les bases 3 à 224 de l'identificateur se séquence n° 3 (SEQ ID NO 3), ou par les bases 7 à 205 de l'identificateur de séquence n° 18 (SEQ ID NO 18), une séquence homologue ou une séquence complémentaire de ladite séquence.
 - 26. Gène chimère comprenant une séquence codante ainsi que des éléments de régulation en position 5' et 3' hétérologues pouvant fonctionner dans un organisme hôte, en particulier les plantes, caractérisé en ce que la séquence codante comprend au moins un fragment d'ADN tel que défini dans les revendications 23 à 25.
 - 27. Gène chimère selon la revendication 26, caractérisé en ce que l'organisme hôte est un microorganisme.
 - 28. Gène chimère selon la revendication 26, caractérisé en ce que l'organisme

WO 99/53053 PCT/FR99/00843

hôte est choisi parmi les cellules végétales et les plantes.

5

20

25

30

29. Vecteur de clonage ou d'expression pour la transformation d'un organisme hôte caractérisé en ce qu'il comprend au moins une origine de réplication et au moins un gène chimère tel que défini dans les revendications 26 à 28.

- 30. Organismes hôtes transformés, caractérisés en ce qu'ils contiennent un fragment d'acide nucléique selon les revendications 23 à 25, ou un gène chimère selon les revendications 26 à 28.
- 31. Organisme hôte transformé selon la revendication 30, caractérisé en ce qu'il s'agit de micro organismes, de cellules végétales ou de plantes.
- 32. Organisme hôte transformé selon la revendication 30, caractérisé en ce qu'il s'agit d'une plante contenant des cellules transformées.
 - 33. Organisme hôte selon la revendication 32, caractérisé en ce que la plante est régénérée à partir des cellules transforméeş.
- 34. Organisme hôte transformé selon la revendication 30, caractérisé en ce que le microorganisme est choisi parmi les bactéries, en particulier *E. coli*, les levures, en particulier des genres *Saccharomyces* ou *Kluyveromyces*, *Pichia*, les champignons, en particulier *Aspergillus*, ou les bacilovirus,
 - 35. Cellule végétale transformée, caractérisée en ce qu'elle contient un fragment d'acide nucléique selon les revendications 23 à 25 ou un gène chimère selon les revendications 26 à 28.
 - 36. Plante transformée, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins une cellule végétale transformée selon la revendication 35.
 - 37. Plante transformée selon la revendication 36, caractérisée en ce qu'elle est résistante aux maladies causées par *Cercospora*, en particulier *Cercospora beticola*, *Cladosporium* en particulier *Cladosporium herbarum*, *Fusarium*, en particulier *Fusarium culmorum* ou *Fusarium graminearum*, ou par *Phytophthora*, en particulier *Phytophtora cinnamomi*.
 - 38. Plante transformée, caractérisée en ce qu'elle est issue de la culture et/ou du croisement des plantes selon l'une des revendications 36 ou 37.
 - 39. Graines de plantes transformées selon l'une des revendications 36 à 38.
 - 40. Procédé de transformation des organismes hôtes, en particulier des cellules végétales ou des plantes, caractérisé en ce que l'on insère dans ledit organisme hôte au moins un fragment d'acide nucléique selon les revendications 23 à 25 ou un gène chimère

WO 99/53053 43 PCT/FR99/00843

selon l'une des revendication 26 à 28.

5

10

15

41. Procédé selon la revendication 40, caractérisé en ce que l'organisme hôte est une cellule végétale ou une plante.

- 42. Procédé selon la revendication 41, caractérisé en ce que l'on régénère une plante à partir de la cellule végétale ou de la plante transformée.
- Procédé de culture des plantes transformées selon l'une des revendications 36 à 38, caractérisé en ce qu'il consiste à planter les graines des dites plantes transformées dans une surface d'un champ approprié pour la culture des dites plantes, à appliquer sur la dite surface du dit champ une composition agrochimique, sans affecter de manière substantielle les dites graines ou les dites plantes transformées, puis à récolter les plantes cultivées lorsqu'elles arrivent à la maturité souhaitée et éventuellement à séparer les graines des plantes récoltées.
- 44. Procédé de culture selon la revendication 33, caractérisé en ce que la composition agrochimique comprend au moins un produit actif ayant au moins une activité fongicide et/ou bactéricide.
- 45. Procédé de culture selon la revendication 44, caractérisé en ce que le produit actif présente une activité complémentaire de celle du peptide selon l'une des revendications 1 à 20.
- 46. Procédé de préparation d'héliomicine définie selon l'une des revendications
 1 à 20, caractérisé en ce qu'il comprend comprenant les étapes de culture d'un organisme
 transformé selon l'une des revendications 30 à 34 dans un milieu de culture approprié,
 puis l'extraction et la purification totale ou partielle de l'héliomicine obtenue.